

Zadanie 2.2

Wpisany przez Administrator

poniedziałek, 11 stycznia 2016 08:04 - Poprawiony czwartek, 14 stycznia 2016 11:39



[Powró t](#)

Zadanie 2.2. „Identyfikacja genów warunkujących zawartość alkaloidów oraz zawiązywanie i utrzymanie organów generatywnych u łubinów .”

Wykonawca: IGR PAN **Współpraca:** Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Cel: Celem badań będzie identyfikacja genów uczestniczących w szlaku syntezy alkaloidów u łubinu białego i żółtego z zastosowaniem techniki RNA-seq oraz charakterystyka molekularnych i fizjologicznych przemian regulujących zawiązywanie oraz utrzymywanie organów generatywnych u łubinu żółtego (współpraca).

Do realizacji założonego celu niezbędne jest:

- wyselekcjonowanie i określenie zmian aktywności transkrypcyjnej genów odpowiedzialnych za regulację i przebieg procesów związanych z produkcją asymilatów oraz wyznaczenie ich potencjalnego wpływu na ilość zawiązywanych i utrzymywanych organów generatywnych łubinu żółtego;
- określenie udziału wybranych fitohormonów niskocząsteczkowych regulatorowych RNA w procesach zawiązywania i utrzymywania kwiatów i strąków.

Zadanie 2.2

Wpisany przez Administrator

poniedziałek, 11 stycznia 2016 08:04 - Poprawiony czwartek, 14 stycznia 2016 11:39

Harmonogram realizacji zadania z podziałem na etapy:

1) Etap I – 2016 r.:

- Eksperyment RNA-seq dla łubinu białego i żółtego, analiza ekspresji różnicowej obejmująca złożenie *de novo* transkryptomów i/lub określenie poziomów ekspresji, wytypowanie genów kandydatów potencjalnie zaangażowanych w syntezę alkaloidów u obu gatunków, wytypowanie genów referencyjnych do analiz qPCR.
- Założenie upraw przygotowanie materiału do konstrukcji bibliotek transkryptomowych oraz identyfikacja i oznaczanie ekspresji genów związanych z funkcjonowaniem fitohormonów i determinacją wieku rośliny.
- Określenie zależności pomiędzy ilością zawiązanych organów generatywnych, a aktywnością fotosyntetyczną i metabolizmem cukrów u łubinu żółtego (współpraca).

2) Etap II – 2017 r.:

- Eksperyment RNA-seq dla łubinu białego i żółtego, analiza ekspresji różnicowej obejmująca złożenie *de novo* transkryptomów i/lub określenie poziomów ekspresji, wytypowanie genów kandydatów potencjalnie zaangażowanych w syntezę alkaloidów u obu gatunków, wytypowanie genów referencyjnych do analiz qPCR.
- Sekwencjonowanie bibliotek transkryptomowych. Bioinformatyczna selekcja genów istotnych dla regulacji metabolizmu fitohormonów, cukrów, aminokwasów oraz prekursorów miRNA i kontrolowanych przez nie genów docelowych związanych z gospodarką mineralną hormonalną oraz wiekiem rośliny.
- Analiza ekspresji genów, w różnych wariantach uprawy roślin (nawożenie, aplikacja hormonów, dostępność wody), wypowanych na podstawie analizy transkryptomów. Oznaczanie poziomu wybranych fitohormonów cukrów w organach wegetatywnych oraz generatywnych łubinu żółtego.

3) Etap III – 2018 r.:

Zadanie 2.2

Wpisany przez Administrator

poniedziałek, 11 stycznia 2016 08:04 - Poprawiony czwartek, 14 stycznia 2016 11:39

- Analiza ekspresji genów kandydatów z zastosowaniem techniki real-time PCR w genotypach słodkich i gorzkich łubinu białego i żółtego (wcześniejsza optymalizacja warunków reakcji uwzględniająca tradycyjne reakcje PCR i qPCR).
- Identyfikacja pełnej długości sekwencji kodujących wybranych genów oraz badanie ich ekspresji, określenie poziomu miRNA i transkryptów ich genów docelowych w różnych warunkach uprawy (nawożenie, aplikacja hormonów, dostępność wody) kontynuacja badań.
- Określenie poziomu wybranych fitohormonów- kontynuacja. Lokalizacja tkankowa wcześniej wybranych swoistych mRNA, białek oraz fitohormonów.

4) Etap IV – 2019 r.:

- Analiza ekspresji genów kandydatów z zastosowaniem techniki real-time PCR w genotypach słodkich i gorzkich łubinu białego i żółtego (wcześniejsza optymalizacja warunków reakcji uwzględniająca tradycyjne reakcje PCR i qPCR).
- Oznaczenie aktywności transkrypcyjnej wytypowanych genów w takich samych warunkach uprawy i analizy porównawcze wyników ich ekspresji w kolejnych trzech latach badań. Identyfikacja sekwencji promotorowych genów zaangażowanych w funkcjonowanie fitohormonów, czynników transkrypcyjnych lub miRNA.

5) Etap V – 2020 r.:

- Analiza ekspresji genów kandydatów z zastosowaniem techniki real-time PCR w genotypach słodkich i gorzkich łubinu białego i żółtego (wcześniejsza optymalizacja warunków reakcji uwzględniająca tradycyjne reakcje PCR i qPCR).
- Badanie żywotności i siły kiełkowania pyłku z kwiatów rozwijających się na poszczególnych okółkach. Identyfikacja genów zaangażowanych w metabolizm jasmonianów. Opracowanie wyników, weryfikacja hipotez badawczych.

Sposób wykorzystania wyników realizacji zadania:

Przeprowadzone doświadczenia pozwolą na wytypowanie genów zaangażowanych w syntezę alkaloidów u łubinu białego i żółtego oraz zaprojektowanie markerów molekularnych "zakotwiczonych" w sekwencji genów zaangażowanych w syntezę alkaloidów, które zostaną wykorzystane w selekcji materiałów hodowlanych. Wskazane zostaną egzogenne i endogenne

Zadanie 2.2

Wpisany przez Administrator

poniedziałek, 11 stycznia 2016 08:04 - Poprawiony czwartek, 14 stycznia 2016 11:39

czynniki specyficznie wpływające na procesy zawiązywania i utrzymywania organów generatywnych łubinu żółtego, a w rezultacie na plonowanie.

Przeprowadzone zostaną prace dotyczące wyodrębnienia grup genów oraz szlaków metabolicznych istotnych dla procesów zawiązywania utrzymywania organów generatywnych łubinu żółtego, w tym miRNA (porównawcza analiza bibliotek transkryptomowych). W przypadku łubinu żółtego wyznaczona zostanie zależna od fazy rozwojowej wrażliwość na badane czynniki egzogenne (makroelementy i mikroelementy, fitohormony) oraz określony zostanie ich wpływ na plonowanie. Wreszcie zaproponowany zostanie ogólny model regulacji rozwoju generatywnego łubinu żółtego na poziomie molekularnym. Wyniki prac będą ogólnie dostępne dla instytucji naukowych i naukowodydaktycznych.